

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES

Session 2000

BIOLOGIE HUMAINE

Durée : 4 heures

Coefficient : 4

Calculatrice interdite.
Aucun document autorisé.

LES ANTICORPS

1. Relations structure-fonctions (15 points)

1.1. Structure

1.1.1. Sur le schéma fourni en annexe 1 :

- Compléter les légendes.
 - Localiser le(s) site(s) de liaison à l'antigène et la région Fc.
- Le schéma est à rendre avec la copie.**

1.1.2. Les immunoglobulines sont des glycoprotéines oligomériques.

- 1.1.2.1. Définir le terme glycoprotéine et rappeler quels sont le ou les organites cellulaires responsables des glycosylations.
- 1.1.2.2. Présenter succinctement les quatre niveaux d'organisation moléculaire des protéines. Indiquer la nature des différents types de liaisons mises en jeu.
- 1.1.2.3. Des ponts disulfure interchaînes participent à la stabilisation de la structure quaternaire des immunoglobulines.
A partir de quels résidus d'acides aminés se forment ces liaisons disulfure ?

1.2 Fonctions

Il existe différentes classes d'anticorps circulants qui possèdent des valences et/ou des fonctions effectrices différentes.

La fonction commune à toutes les classes d'anticorps est la reconnaissance d'un antigène, ce qui entraîne la formation d'un immunocomplexe.

1.2.1. Quelle est la particularité remarquable de la structure primaire des régions peptidiques responsables de la spécificité des sites de liaison pour les antigènes ?

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 1/8

1.2.2 Citer les différentes classes d'anticorps. Indiquer :

- leur valence théorique ;
- les fonctions liées au fragment Fc pouvant s'exprimer après formation d'un immunocomplexe.

2. Pathologies liées aux anticorps (17 points)

Les pathologies auto-immunes peuvent être responsables d'anémie hémolytique. Il s'agit parfois d'hémolyse intra-vasculaire aiguë d'apparition brutale.

2.1. Aspect hématologique

- 2.1.1. Qu'est-ce qu'une maladie auto-immune ? Donner un autre exemple de maladie auto-immune.
- 2.1.2. Quelles sont les caractéristiques des paramètres érythrocytaires de l'hémogramme lors d'une anémie hémolytique ? Justifier la réponse.
- 2.1.3. Proposer une classification des anémies hémolytiques.

2.2. Aspects biochimiques

On trouve dans le sang des patients atteints d'anémie hémolytique, des concentrations élevées en isoenzymes 1 et 2 de la lactate déshydrogénase (LDH 1 et LDH 2) et de bilirubine non conjuguée.

- 2.2.1. Justifier l'existence des concentrations plasmatiques supérieures à la normale de la LDH et de la bilirubine non conjuguée.
- 2.2.2. Préciser le devenir physiologique de la bilirubine non conjuguée. Expliquer l'apparition fréquente d'ictères dans cette pathologie.
- 2.2.3. La lactate déshydrogénase est une enzyme tétramérique constituée de deux sous-unités, H et M. On trouve dans l'organisme cinq isoenzymes numérotées de 1 à 5.
 - 2.2.3.1. Définir le terme "isoenzyme".
 - 2.2.3.2. Justifier, sur un plan structural, l'existence de ces cinq isoenzymes.
 - 2.2.3.3. La séparation analytique de ces isoenzymes peut être réalisée par électrophorèse. On observe alors cinq bandes. Justifier, par des arguments structuraux, les différences de migration des cinq isoenzymes.
 - 2.2.3.4. Les isoenzymes LDH 1 et LDH 2 possèdent une spécificité de substrat qui leur permet de catalyser à la fois la transformation réversible du pyruvate en lactate (activité LDH) et la transformation de l' α cétobutyrate en α hydroxybutyrate (activité α HBDH). Un coffret de dosage permet de déterminer les deux concentrations d'activité catalytique. La composition des réactifs du coffret est indiquée dans l'annexe 2.

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 2/8

Indiquer le principe de chaque dosage :

- équations ;
- longueurs d'onde utilisées ;
- sens de l'évolution de l'absorbance.

3. Applications thérapeutiques (24 points)

3.1. Prévention et traitement du tétanos

La vaccination antitétanique se fait par deux injections sous-cutanées d'anatoxine à un mois d'intervalle, un rappel au bout d'un an, puis tous les dix ans.

Après une blessure à risque chez un sujet présentant une vaccination incomplète, il faut lui injecter, dans les plus brefs délais, des gammaglobulines antitétaniques.

- 3.1.1. Donner la définition d'une anatoxine.
- 3.1.2. Présenter le mécanisme physiopathologique du tétanos.
- 3.1.3. Expliquer pourquoi les gammaglobulines antitétaniques permettent de limiter l'évolution de la maladie.
Pourquoi est-il urgent de les injecter en cas de blessure à risque ?

3.2. Intérêt de la vaccination anti-*Haemophilus influenzae* sérotype b dans la prévention des méningites chez le jeune enfant.

Il existe actuellement un vaccin anti- *Haemophilus influenzae* sérotype b destiné à protéger les enfants des risques de méningite.

- 3.2.1. *Haemophilus influenzae* est un bacille Gram négatif, le sérotype b est une souche capsulée. Le vaccin a pour objectif de prévenir les méningites dues à ce germe, par la production d'anticorps.
 - Quelle est la nature chimique de cette capsule ?
 - Indiquer son rôle dans le pouvoir pathogène d'*Haemophilus influenzae* ainsi qu'un autre facteur de virulence produit par cette bactérie. Citer une autre espèce bactérienne capsulée responsable de méningites.
- 3.2.2. Dans le cas de méningite aiguë à *Haemophilus influenzae*, quel est l'aspect macroscopique du LCR ? Justifier la réponse.
- 3.2.3. Compte-tenu de l'urgence du diagnostic de méningite, une technique permet de dépister en quelques minutes *Haemophilus influenzae* directement à partir du prélèvement. Décrire cette technique et en présenter le principe.
- 3.2.4. Classiquement, le LCR estensemencé sur un milieu de culture adapté aux exigences de ces bactéries. Présenter la composition sommaire de ce milieu et ses conditions d'utilisation.

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 3/8

3.2.5. Sur quels critères fondamentaux sont identifiés :

- le genre *Haemophilus* ;
- l'espèce *Haemophilus influenzae* ?

3.2.6. De nombreuses souches d' *Haemophilus influenzae* produisent une β lactamase. Donner le principe d'un test de détection rapide de ces enzymes.

3.3. Vaccination anti-bilharziose

De nombreuses recherches portent actuellement sur la mise au point de vaccins antiparasitaires en particulier contre les bilharzioses.

3.3.1. A quel genre appartiennent les parasites responsables des bilharzioses ?

3.3.2. Indiquer le mode de contamination et la forme infestante.

3.3.3. Donner les étapes du diagnostic direct de cette parasitose à partir de l'urine.

4. Outil de diagnostic (24 points)

4.1. Les anticorps monoclonaux et la différenciation cellulaire

Dans de nombreux cas, l'étude de la différenciation cellulaire a bénéficié de l'apport des anticorps monoclonaux. Ils sont dirigés contre des structures antigéniques membranaires ou cytoplasmiques.

4.1.1. Définir le terme "anticorps monoclonal".

4.1.2. Application à l'étude de l'érythropoïèse

4.1.2.1. Les antigènes membranaires de la lignée érythroblastique sont donnés en annexe 3. Les anticorps monoclonaux correspondant peuvent être utilisés pour mettre en évidence les antigènes membranaires des BFU E et CFU E.

Présenter le principe et les modalités de l'immunofluorescence directe appliquée à la reconnaissance des BFU E.

4.1.2.2. Citer les critères d'identification, sur frottis coloré au MGG, des autres cellules de la lignée présentées dans le tableau (annexe 3).

4.1.2.3. Représenter schématiquement le proérythroblaste.

4.1.3. Etude de la différenciation des cellules endothéliales obtenues en cultures cellulaires

L'un des critères le plus utilisé pour affirmer la différenciation est la révélation du facteur Von Willebrand par immunofluorescence.

4.1.3.1. La culture des cellules endothéliales est réalisée en présence d'un milieu nutritif auquel on ajoute :

- du sérum de veau fœtal ;
- de la glutamine ;
- de la pénicilline ;
- de la streptomycine.

Indiquer l'intérêt des ces différents composés.

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 4/8

- 4.1.3.2. Après lésions des vaisseaux, l'hémostase primaire débute. Les cellules endothéliales libèrent notamment le facteur Von Willebrand. Expliquer le rôle de ce facteur dans l'hémostase primaire et indiquer la conséquence physiologique de sa libération locale.

4.2. Sérodiagnostic de l'infection par le VIH

Le sérodiagnostic de l'infection par le VIH est réalisé en première intention par une détection et un titrage d'anticorps spécifiques par méthode ELISA.

En cas de séropositivité, un test de confirmation est réalisé par une technique d'immuno-empreinte.

- 4.2.1. Après culture du VIH 1 et purification, il est possible d'extraire les différentes protéines antigéniques. On réalise une séparation des protéines, selon leur masse moléculaire par une électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS). Le SDS confère à toutes les protéines une densité de charge négative identique. Après migration, ces protéines sont transférées sur une bande de nitrocellulose. Après séchage, les bandes sont utilisées pour les tests immunologiques.

4.2.1.1. Dans le cas de l'électrophorèse de zone des protéines :

- préciser les facteurs intervenant sur la mobilité électrophorétique ;
- indiquer leur rôle respectif.

4.2.1.2. A l'aide du tableau présenté en annexe 4, justifier le choix d'une électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS.

4.2.2. Un protocole de détection des anticorps sériques anti VIH 1 par immunoempreinte est proposé (annexe 5).

4.2.2.1. Exposer le principe de la technique immunologique présentée en annexe 5.

4.2.2.2. Justifier les différents lavages.

4.2.2.3. Justifier l'emploi :

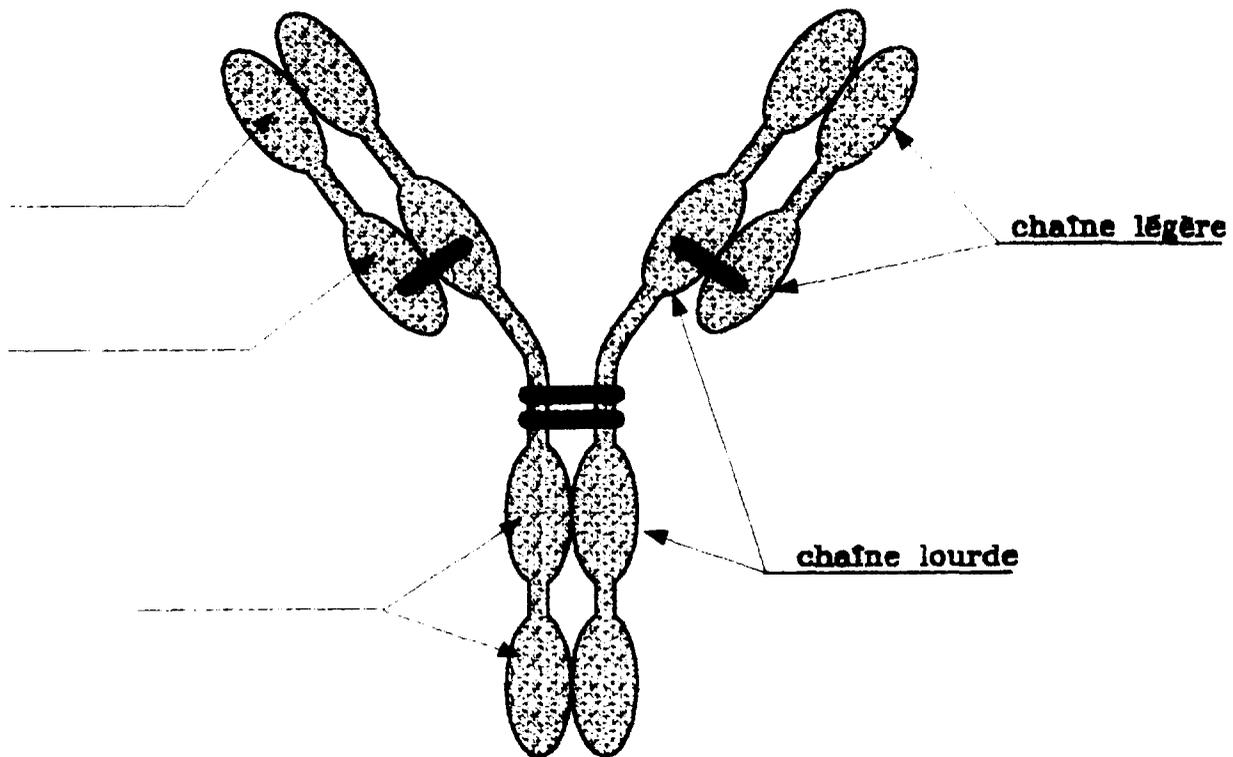
- d'un sérum de contrôle positif.
- d'un sérum de contrôle négatif.

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 5/8

DOCUMENT-REPONSE

(A rendre avec la copie)

Annexe 1 Schéma de la structure de base d'une immunoglobine IgG



Chaque forme ovale  symbolise un domaine de chaîne polypeptidique

Chaque trait  symbolise un pont disulfure

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 6/8

Annexe 2 Composition des réactifs du dosage LDH α HBDH

Réactif 1	Tampon phosphate pH = 7.5 NADH
Réactif 2	pyruvate
Réactif 3	α -cétobutyrate

Annexe 3 Expression antigénique des cellules de la lignée érythroblastique

	BFU E	CFU E	Pro.Er	E.B.	Rét.	Hématie
HLA DR	←————→					
CD 34	←————→					
CD 35	←——→					
CD 36		←————→				
Acétyl- cholinestérase		←————→				
Glycophorine A			←————→			
Ag ABH		←————→				
Ag Rh		←————→				

Pro E : proérythroblaste

EB : érythroblaste basophile

Rét. : réticulocyte

BFUE :Burst forming unit-erythroid

CFUE : Colony forming unit-erythroid

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 7/8

Annexe 4 *Caractéristiques des supports d'électrophorèse*

	Acétate de cellulose	Polyacrylamide en présence de SDS	Gélose standard (agar)
Electroendosmose	+	0	+++
Contre courant d'évaporation	++	faible	++
Tamisage différentiel des protéines	0	+++	faible

Annexe 5 *Détection des anticorps anti VIH 1 par immunoempreinte.*

1. Réhydratation des bandelettes.
2. Incubation des échantillons sériques de patients et de sérums de contrôle.
3. Lavage
4. Incubation en présence d'anti IgG humains conjugués à la phosphatase alcaline.
5. Lavage
6. Incubation en présence de 5-bromo, 4-chloro, 3-indolphosphate et de nitrobleu de tétrazolium.
7. Lavage
8. Lecture

BTS ANALYSES BIOLOGIQUES	SUJET	Session 2000
Epreuve U4 BIOLOGIE HUMAINE	Durée : 4 heures	Coefficient : 4
CODE : ABBIOH		Page 8/8